



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Mönster-elektroretinografi (PERG) på häst

Linnéa Viklund

*Uppsala
2015*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2015:77*

Mönster-elektroretinografi (PERG) på häst

Pattern-electroretinography in horses

Linnéa Viklund

Handledare: Björn Ekesten, Institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Lena Ström, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Karin Holm Forsström, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Delnummer i serie: Examensarbete 2015:77

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Mönster-elektroretinografi, mönster-ERG, PERG, retina, häst

Key words: Pattern-electroretinography, Pattern-ERG, PERG, retina, horse

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Mönster-elektroretinografi (mönster-ERG, pattern-ERG, PERG) är en elektrofysiologisk mätmetod där retinas funktion utvärderas objektivt utifrån de spänningsvariationer som fås vid stimulering med ett mönster, oftast på en bildskärm. Mätningarna av dessa elektriska signaler används för att kunna diagnosticera avvikelser och att hitta var i synsinnet ett eventuellt problem är lokaliserat. Patienten, i den här studien hästen, får titta på ett schackrutigt mönster som reverseras på en bildskärm. Rutorna är svart-vita och reverserar (d v s de svarta blir vita och de vita blir svarta samtidigt), varför ljusmängden kommer hållas konstant och mönstret blir det som påverkar retina. PERG har tidigare inte utförts på häst, vilket var målet att försöka utföra i den här studien. På andra djurslag (bland annat på hund, katt, råtta, kanin och människa) har registreringar utförts framgångsrikt.

Våra resultat visar att det är möjligt att utföra reproducerbara registreringar från retina vid rutmönsterexponering även på hästar. Kurvor från registreringarna från de tre hästar som användes i studien hade liknande vågformer. Medelvärde av amplituder och implicittider jämfördes och visade även dessa på överensstämmande resultat mellan hästarna. PERG utfördes även på två studenter. Resultaten från dessa registreringar visar på vikten av fixering av rutmönstret för att få kurvor av bra kvalitet. Då fixering inte hölls på rutmönstret var toppar och dalar i kurvorna svåra att urskilja.

Registreringarna på häst var dock inte helt enkel, bland annat på grund av att det var svårt att veta var hästen faktiskt fixerade. Yttre omgivningsfaktorer kunde enkelt påverka hästen som då tappade fokus, vilket gav muskelartefakter eller rörelser av ögongloben på det studerade ögat med kurvor av dålig kvalitet som följd.

Resultaten antyder att det kan finnas en luminansartefakt i mönsterregistreringarna från den använda utrustningen då minskade rutstorlekar inte gav någon minskad amplitud, vilket borde ha skett om ERG:t endast var mönsterdrivet. Detta behöver säkerställas och åtgärdas vid ytterligare försök med mönster-ERG på häst.

Ytterligare studier krävs för att kunna ta fram normaldata och längre fram förhoppningsvis även kunna använda metoden i klinisk verksamhet på häst.

SUMMARY

Pattern-electroretinography (PERG) is an electrophysiological method where the function of the retina is objectively evaluated with voltage variations obtained in response to pattern stimuli. Detection of these electrical signals is used to diagnose abnormalities in the visual system and find out where a potential visual problem is located. Patients, horses in this study, look at a reversing black and white checkerboard pattern (that is the white squares turn black and the black ones turn white simultaneously) on a monitor. Hence, the amount of light will be constant and only the changes in the pattern will affect the retina. PERG has not been registered in horses previously, which was therefore the goal of this study. In other species (for example in dogs, cats, rats, rabbits and humans) registrations have been performed successfully.

The results of this study show that it is possible to make reproducible registrations in response to pattern stimulation in horses. Similar waveform appearance was seen from registrations in the three horses which were included in this study. The mean amplitudes and implicit times were compared and showed similar results between the horses. PERG was also registered from two veterinary students. The results from these registrations showed the importance of maintaining focus on the checkerboard pattern to obtain curves of good quality. When focus was not kept on the pattern, the peaks and troughs of the responses were not easily discernible.

Registration of PERG in the horse was not easily performed. One of the reasons was that it was hard to know when the horse actually focused on the pattern. The horse easily lost focus due to environmental factors, which caused muscle artefacts and movements of the eye globe. This resulted in poor quality curves.

The results suggest that there may be a luminance artefact present in the registrations obtained with the system used in this study, because reduced check size did not give a reduced amplitude, which ought to be the case if the ERG was only driven by pattern reversal. This must be further analyzed and fixed before further PERGs are obtained.

More studies are needed to collect normative data and, in the future, hopefully use the method clinically in horses.

INNEHÅLL

INLEDNING.....	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Anatomi ögat	2
Synnedsättning och möjliga undersökningsmetoder på häst	3
Grunderna i ERG.....	3
ERG inom veterinärmedicinen.....	4
Mönster-ERG (PERG)	4
Tolkning av PERG.....	4
PERG på människa.....	5
PERG på djur	6
ERG på häst.....	8
FERG på häst	8
Klinisk användning av ERG på häst.....	10
Bildkälla vid stimulering	10
EXPERIMENTELL STUDIE.....	11
MATERIAL OCH METOD.....	11
Hästar	11
Klinisk och oftalmologisk undersökning	11
Sedering, lokalbedövning och tårersättning.....	11
Registrering av ERG och VEP.....	12
Mönsterstimulus	12
Registrering av PERG	13
Val och bearbetning av registrerade kurvor	13
Studentförsök	13
RESULTAT	15
Hästarna	15
Studenterna	17
DISKUSSION	18
Framtida studier.....	20
KONKLUSION	21
TACK	21

REFERENSER	22
------------------	----

INLEDNING

Synnedsättning hos häst är något som är svårt att diagnosticera och bedöma. I de fall där hästen är helt blind är problemet givetvis lättare att uppmärksamma, men diagnostiken vid partiell synnedsättning är något som kan utvecklas ytterligare. En ökad förståelse för synnedsättningar hos häst skulle bland annat kunna hjälpa till att förklara exempelvis vissa beteendeproblem eller nedsatt prestation, men än så länge saknas metoder för att kunna utreda hästens syn fullständigt. Att objektivt kunna bedöma synnedsättningar är följaktligen viktigt för djurskyddet.

Våra vanliga husdjur kan inte beskriva och förmedla sina synintryck och synproblem på samma sätt som en människa, vilket gör synundersökning av djur till en utmaning. Därför ställs höga krav på den som undersöker och på de undersökningsmetoder som används för att försöka utreda en misstänkt skadas lokalisation och omfattning.

Hästens öga mottar ljusstimuli av olika våglängd och intensitet. Retinas celler omvandlar ljusstimuli via biokemiska reaktioner till elektriska signaler. De elektriska signalerna transporteras sedan vidare via synnerven till synbarken och tolkas som synintryck.

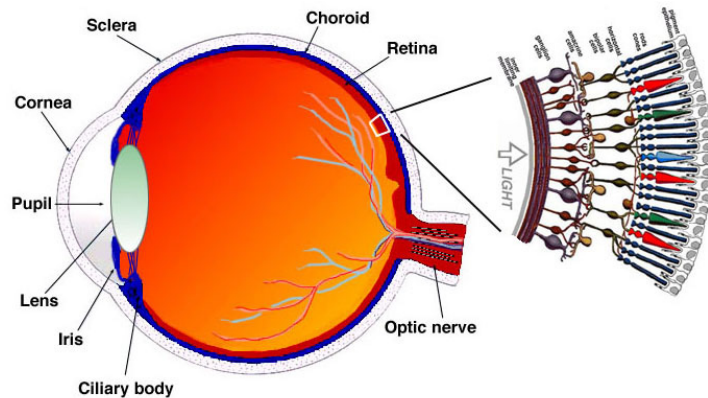
För att kunna bedöma retinas funktion objektivt kan elektroretinografi (ERG) användas. ERG är en elektrofysiologisk metod där de elektriska potentialer som genereras i retina när ögat stimuleras med ljus eller mönster registreras. Resultatet är en kurva som utvärderas med avseende på tid och spänningsskillnader. Registreringar av elektriska potentialer från friska individer kan sedan jämföras med sådana som inte ser ut som förväntat och på så sätt kan en funktionsnedsättning i retina identifieras och kvantifieras. Metoden används både inom humanvården och veterinärmedicinen.

Den än så länge mest använda ERG metoden går ut på att en patients öga stimuleras med ljusblixtar och ett så kallat blixt-ERG (flash-ERG, FERG) registreras. Med FERG kan funktionen i neuroretina, samt retinas pigmentepitel utvärderas (om särskild registreringsutrusning används). Funktionen hos macularegionen, gangliecellerna och mer distala delar av retina kan mer specifikt utvärderas med hjälp av en annan form av ERG där en patient får titta på ett reverserande ruttmönster, så kallat mönster-ERG (pattern-ERG, PERG). På både människor och några andra djurarter finns registreringar utförda och normalkurvor framtagna. På häst har PERG aldrig beskrivits, vilket det här försöket har som mål att ändra på.

LITTERATURÖVERSIKT

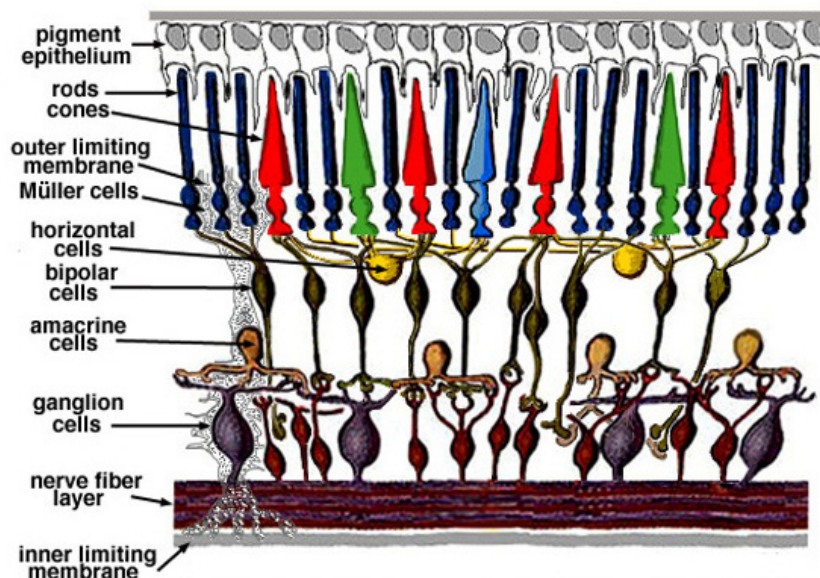
Anatomi ögat

Ögat består, grovt indelat, av tre lager: ett fibröst lager (cornea och sclera), ett vaskulärt lager (uvea) och ett nervlager (retina). Retina kan histologiskt delas upp i 10 olika lager. Av dessa är det yttersta lagret pigmentepitel och de övriga nio hör till neuroretina. Retina är en del av centrala nervsystemet: i retina



sker omvandlingen från ljusstimuli till elektriska signaler som leds vidare till synbarken

och där tolkas som synintryck. Fotoreceptorerna som finns i retina, det vill säga tappar och stavar, fångar ljuskvanta (fotoner) och överför den elektromagnetiska strålningen via en serie biokemiska reaktioner till nervimpulser. Amakrin-, bipolar- och horisontalceller tar emot dessa impulser och modifierar dem vidare för transport till ganglieceller som finns i ett inre cellager i retina. Gangliecellerna leder signalerna vidare via synnerven och synbanorna, vilka i sin tur leder signalerna till synbarken (Samuelson, 2013).



Figur 2. Schematisk förstoring av retina. Tack till <http://webvision.med.utah.edu>

Synnedsättning och möjliga undersökningsmetoder på häst

Hurn och Turner (2006) rapporterade om en förekomst av ögonsjukdomar med potential att orsaka synnedsättning hos 7,4 % av fullblod i Australien i en prospektiv studie där 204 hästar undersöktes oftalmologiskt. Detta är, menar de, en högre andel fall jämfört med den allmänna uppfattningen att ögonsjukdomar som orsakar synnedsättning är relativt ovanligt hos detta djurslag. De drar slutsatsen att den relativt höga prevalensen av ögonsjukdomar talar för vikten av en grundlig oftalmologisk undersökning vid rutinundersökning av hästar.

En synundersökning börjar med en grundlig anamnes. Det är viktigt att tänka på att undersökningsrummet ska kunna mörkläggas samt att fönster med solljus bör undvikas på grund av ljusreflexer på cornea och lins. Hästen behöver också vara lugn och samarbetsvillig, sedering kan krävas. Lokalanestesi, liksom nervblockader kan appliceras vid behov, till exempel vid blefarospasm.

För att kunna utföra en ögonundersökning används en spaltlampa eller annat fokalt ljus, även möjlighet till förstoring är bra att ha tillgång till. För en utökad undersökning krävs även ett oftalmoskop (direkt och/eller indirekt oftalmoskop eller ett fokalt ljus kombinerat med en indirekt oftalmoskopilins).

Ögonundersökningen inleds med att ögonen och omgivande vävnader bedöms utifrån symmetri, storlek och position. Orbita och ögonlock inspekteras och palperas efter konturförändringar eller tecken på trauma. Sedan kontrolleras hot-, ljus- och blinkreflex. Corneas yta inspekteras, liksom iris och lins. Även pupillen, glaskroppen och främre ögonkammaren undersöks. En utökad undersökning, där fundus och synnerven kan undersökas närmare med oftalmoskop kan utföras. Detta kräver att pupillen dilateras och ibland krävs även sedering och blockad av ögonlocksmuskulaturen. En enkel synundersökning omfattande en bana med olika hinder, samt ett fallande bomullstuss-test kan utföras.

Ytterligare undersökningsmetoder som kan användas är t ex olika bilddiagnostiska metoder, elektrofysiologi, samt skiaskopi (undersökning av ögats brytningsförmåga).

Grunderna i ERG

Elektroretinografi är en objektiv mätmetod där spänningsvariationer registreras för att utvärdera retinas funktion (Ekesten, 2013). Redan 1865 visades ljusstimulering av ögat ge upphov till elektriska signaler i retina (Holmgren, 1865) och sedan dess har utvecklingen inom området fortsatt.

I retina reagerar fotoreceptorer på ljusstimulus och skickar signaler vidare via olika signalvägar i retina (Ekesten, 2013). Vid elektroretinografi (ERG) kan stimulus vara ljusblixtar, så kallat blixter-ERG (flash-ERG, FERG), eller reverserande, isoluminanta mönster, så kallat mönster-ERG (pattern-ERG, PERG). Dessa stimuli ger upphov till elektriska signaler i retina vilka kan registreras och senare analyseras för att undersöka olika delar av retinas funktion. Det isoluminanta mönster som används vid PERG ger en konstant

ljusmängd, till skillnad från luminansskillnaderna som retina stimuleras med vid FERG. Det leder till att olika signalvägar aktiveras. Sammantaget syftar mätningarna av de elektriska signalerna till att kunna diagnosticera avvikelser och att hitta var i synsinnet ett eventuellt problem är lokaliserat.

ERG inom veterinärmedicinen

Elektroretinografi används inom veterinärmedicin både i forskningssyfte och i klinisk verksamhet. För FERG på hund finns riktlinjer framtagna för att kunna standardisera utförandet mellan olika kliniker och undersökningstillfällen (Ekesten *et al.*, 2013) men riktlinjer för andra former av ERG och vedertagna riktlinjer för FERG på andra djurslag (med undantag av människa) saknas eller har fått ringa genomslag.

På hund används FERG bland annat för att utvärdera förekomst och utveckling av ärftlig retinal dystrofi och andra retinala degenerationer, liksom akut uppkommen synnedsättning som tros kunna härröra från retina (Ekesten, 2013). Hund är det djurslag där ERG är mest frekvent använt som en metod för klinisk diagnostik.

Mönster-ERG (PERG)

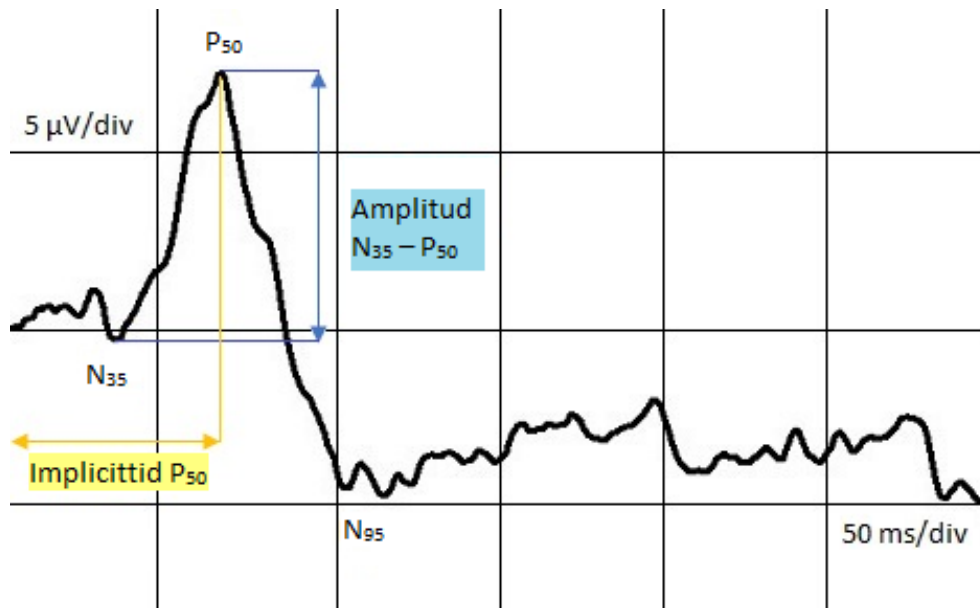
PERG är ännu så länge mindre använt och utforskat inom veterinärmedicinen då metoden anses vara mer tekniskt krävande än FERG.

Tolkning av PERG

Inom humanmedicinen finns en internationell standard för PERG som är utarbetad av International Society for Clinical Electrophysiology (Bach *et al.*, 2012).

För PERG på djur finns än så länge inga riktlinjer framtagna, så i PERG-försök har delar av riktlinjerna för både PERG på människa (Bach *et al.*, 2012) och riktlinjer för FERG på hund (Ekesten *et al.*, 2013) använts.

För att utvärdera kurvorna som fås vid ERG-registreringar används implicitid som mäts i millisekunder (ms) efter x-axeln och amplitud som mäts i mikrovolt (μV) efter y-axeln (Bach *et al.*, 2012). Vid tolkning av PERG på människa bestäms amplitud och implicitid för en negativ första våg (N_{35}), en positiv andra våg (P_{50}), och ibland även en negativ andra våg (N_{95}). Implicittiden för N_{35} mäts från start av stimuli och avslutas vid tiden för N_{35} minimala värde, implicitiden för P_{50} börjar vid start av stimuli och avslutas vid tiden för P_{50} maximala värde. Amplituden för P_{50} mäts från N_{35} minimala värde till P_{50} maximala värde (figur 3).



Figur 3. Exempelkurva för PERG med exempel hur implicittid och amplitud beräknas. I detta fall PERG från människa.

Ekesten *et al.*, (2013) beskriver liknande sätt att beräkna implicittider och amplituder för FERG registreringar på hund. För FERG benämns första negativa vågen a-våg och andra vågen (den första positiva) b-våg.

PERG på människa

PERG på människa är en retinal respons utlöst av ett schackrutigt mönster eller gitter (Bach *et al.*, 2012). Det schackrutiga mönstret reverserar, det vill säga ändras abrupt under stimuleringen. Frekvensen av mönsterändringar bestämmer om det blir en övergående, så kallad transient kurva, eller en kurva med steady-state utseende där retina stimuleras mer frekvent. Med en transient kurva (responsen på ett stimulus hinner avslutas innan nästa respons börjar) blir det lättare att särskilja PERG:ts olika komponenter, varför en sådan kurva är att föredra vid registrering. Amplituderna vid PERG registreringar är små, mellan 2-8 μV , vilket gör metoden mer känslig för störningar än till exempel FERG.

PERG kan användas vid misstänkt glaukom, optiska neuropatier eller sjukdomar som primärt skadar retinas ganglieceller, men också vid sjukdomar som påverkar tapparnas funktion i macula (Bach *et al.*, 2012). P_{50} :s ursprung är något mer svårbestämt men utgår från fotoreceptorerna i macula, ca 70 % verkar relateras till gangliecellernas funktion och resten härrör troligen från de yttre delarna av retina (Holder, 2004). N_{95} verkar vara relaterad till gangliecellsfunktion i retina.

En annan möjlig användning är då kurvor registrerade för pattern-VEP (en elektrofysiologisk mätmetod som kan detektera förändringar i synnerv och högre synvägar) är onormala för att bestämma var i synbanorna skadan uppstått. Är PERG inte normalt finns troligen skadan i centrala retina; är PERG normalt är skadan postretinal.

I en studie av Cunha *et al.*, (2008) undersöktes humanpatienter med bandatrofi i synnerven till följd av kompression av chiasma opticum vilket resulterat i permanenta synbortfall. PERG visade på signifikant sänkta amplituder hos patienterna med bandatrofi jämfört med friska kontrollögon, vilket indikerar skada eller bortfall av retinala ganglieceller.

Okulär hypertension är ett förstadium till glaukom. Bach *et al.* (2006) undersökte människor med okulär hypertension, som ännu inte hade några synnervsförändringar med PERG. PERG med steady-state kurvor registrerades, rutstorlekarna 0,8° och 16° användes. I studien räknades en responskvot ut mellan de båda rutstorlekarna. Denna kvot visades kunna förutsäga om ögat skulle konvertera till glaukom eller inte. Därför menar författarna att PERG-kvoten kan användas som en tidig indikator för vilka ögon med högt tryck som kommer konvertera till glaukom. Även vikten av att korrelera PERG med ålder poängteras, då amplituden hos PERG-kurvan minskar med stigande ålder.

Åldersrelaterad maculadegeneration visade sig vara den vanligaste orsaken till blindhet hos personer i USA (Congdon *et al.*, 2004). Sjukdomen definieras som en progressiv, degenerativ åldersförändring i macula. Vid maculadegeneration (så som åldersrelaterad maculadegeneration, hål i macula, central serös retinopati och diabetorsakad maculopati) har förändringar på PERG med minskad amplitud hos P50 visats (Holder, 2001). I vissa fall har även förändringar av implicitider kunnat ses.

PERG på djur

I försök på däggdjur sövs ofta djuret eftersom det är viktigt att mönstret verkligen kommer i rätt position på retina och det är svårare då patienten inte samarbetar till fullo (Ekestén, 2013). En kamera eller annat optiskt instrument som projicerar bilden på retina används då istället för en bildskärm.

PERG på hund

I en studie gjord av Grozdanic *et al.*, (2009) användes hundar som var drabbade av primärt glaukom. Upprepade PERG registreringar samt registreringar av det intraokulära trycket gjordes på hundarna, från 8 till 30 månaders ålder. Hundarna med glaukom hade signifikant lägre PERG amplituder. Amplituderna blev lägre och lägre med stigande ålder samtidigt som det intraokulära trycket ökade.

Hamor *et al.*, (1999) registrerade PERG från hundar där ökande intraokulärt tryck inducerades. Med ökande tryck sågs minskande amplituder och förlängda implicitider för samtliga PERG-vågor. Trycket i ögat ökades successivt under en dag, därefter sänktes trycket till normal nivå. Vid dag tre respektive sju var PERG kurvorna normala igen. Efter försöket avslutats gjordes en histologisk undersökning av retina och synnerven: inga skillnader sågs mellan ögon där trycket ökats jämfört med kontrollögon, varför inga permanenta skador på retina antogs ha uppkommit vid tryckökningen.

Ofri *et al.*, (1993) använde PERG för att bestämma synskärpan hos beaglar. Både de centrala och perifera delarna av retina utvärderades med hjälp av olika storlekar på gitter som

projicerades på retina. De fastslog, utifrån PERG-resultaten, att de centrala delarna hade en bättre synskärpa jämfört med de perifera.

I en studie av Sims & Ward (1992) undersöktes PERG på blandrashundar som exponerades för rutmönster med varierande storlek på rutorna. PERG på hund visades ha en liten negativ våg (N_1) där medelvärdet för implicittiden varierade mellan 9,75–21,35 ms för de olika rutstorlekarna som användes. N_1 följdes av en större positiv våg (P_1) med implicittider mellan 31,6–57,67 ms för de olika rutstorlekarna och efter det en större negativ våg (N_2) vid 90,62–105,6 ms. Medelamplituderna för P_1 och N_2 var mellan 0,35–1,99 respektive 0,44–5,17 μV . Större storlekar på rutmönstret visade sig ge minskade amplituder för P_1 och N_2 och dessutom fick N_1 och P_1 en ökad implicittid. Individuella skillnader mellan hundarna var stora, men resultaten från en och samma hund var reproducerbara. Större storlek på rutorna visade en minskade amplitud hos N_2 som sågs då rutstorleken ökades stämmer överens med resultatet från Hamor *et al.*, (1999).

PERG på katt

En studie som undersökte PERG före och efter att synnerven avskurits unilateralt på katter genomfördes av Maffei & Fiorentini (1981). Olika storlekar på gitter användes och steady-state kurvor registrerades. Resultaten visade på minskade amplituder mellan fyra och sex veckor efter operationen, framförallt då mindre rutmönster användes. Efter fyra månader gick det inte att erhålla PERG-registreringar överhuvudtaget från den opererade sidans öga. Detta menar de talar för gangliecellsdegeneration och att normal gangliecellsfunktion är en förutsättning för ett normalt PERG. PERG registreringar fortsatte att vara normala under hela perioden.

Ohzawa och Freeman (1985) registrerade PERG på katter efter exponering med mönster och visade på en mönsterspecifik komponent i PERG. Den andra, positiva vågen, (P_1), saknades dock i kurvorna, men kunde ses då luminansen ökades. Framförallt sågs en negativ komponent i registreringarna, vars minimala värde var som störst efter 120-200 ms. Registreringarna från retina gjordes via en intravitreal elektrod.

Vaegan *et al.*, (2002) studerade katter där synnerven snittades av unilateralt. Både FERG och PERG (både steady-state och transienta stimuleringar) registrerades ett flertal gånger efter operationen. Transienta PERG registreringar innan operationen visade en normal vågform för katt: en liten positiv första våg vid ca 35 ms, följt av en större negativ andra våg vid ca 130 ms och en långsam positiv tredjevåg vid ca 250 ms. Medelamplituden för den andra negativa vågen var 2 μV . Resultaten stämmer överens med tidigare försök som författarna utfört (se Vaegan *et al.*, 1990). Vidare visade Vaegan *et al.* (2002) att medelamplituderna för transient-PERG i opererade ögon var signifikant lägre jämfört med de normala ögonen för alla olika rutstorlekar som användes både vid tidiga och sena uppföljningar. Efter 16 månader var PERG amplituderna nästan helt borta.

PERG på gnagare

För att bidra till forskningen kring högt intraokulärt tryck (som är högaktuellt på människa) har gnagaremodeller använts. Gnagares synnerv liknar i stort primaters, men de saknar lika

utvecklad lamina cribrosa (Morrison *et al.*, 1995). Även om anatomin alltså i viss mån skiljer sig åt jämfört med människa, ger forskning på råttor och andra gnagare ändå värdefulla resultat då funktionen är liknande (Morrison *et al.*, 2010).

Ben-Shlomo *et al.*, (2005) visade att PERG-amplituder blev lägre vid ökat intraokulärt tryck hos råttor jämfört med kontrollögon. Antal retinala ganglieceller sågs minska, vilket korrelerade med PERG-vågornas minskade amplituder. I samma experiment gjordes också en intravitreal injektion med substansen tetrodotoxin. Detta gav ett bortfall av PERG, men påverkade inte FERG. Tetrodotoxin är ett ämne som blockerar natriumkanaler, vilket blockerar aktionspotentialerna i gangliecellerna i retina (Thurlow & Cooper, 1989).

PERG på kanin

I ett försök på kanin där FERG och PERG studerades vid ökande intraokulärt tryck var b-vågor för FERG oförändrade trots tryckökningen, medan PERG visade en minskad amplitud för P₁ (Feghali *et al.*, 1991). När trycket åter var normalt återgick även amplituderna för PERG. Detta föreslogs bero på att retinas inre del med ganglieceller påverkades vid tryckökningen men inte retinas yttre delar. Förändringarna var däremot inte permanenta, då amplituderna normaliserades.

ERG på häst

På häst finns inga försök med PERG rapporterade, däremot har försök med FERG utförts.

FERG på häst

På häst finns några försök med FERG rapporterade, bland annat av Komáromy *et al.* (2003), Ström (2004), Church och Norman (2012) och Ben-Shlomo *et al.* (2012).

Ben-Shlomo *et al.*, (2012) studerade hästars mörkeradaptation vid olika tidpunkter. Ögat stimulerades med lågintensitva ljusblixtar på 0,03 cd·s/m² under mörkeradaptation från 5 till och med 60 min. Resultaten visade att 20 minuters mörkeradaptation var lämplig för att studera stav- eller kombinerad stav- och tappfunktion, då amplituder för b-vågen sågs öka fram till den tidpunkten.

Church och Norman (2012) visade på normala FERG registreringar gällande amplitud och implicitid för fullblodshästar där retina stimulerades med en mini-Ganzfeld enhet (apparat för blyxtstimulering). För lågintensitetsblixtar på 0,01 cd·s/m² beräknades b-vågens amplitud till 96,5 ± 46,2 µV och b-vågens implicitid till 57,4 ± 9,4 ms, för medelintensitetsblixtar på 3 cd·s/m² beräknades b-vågens amplitud till 188,6 ± 49,9 µV och implicitid till 35,1 ± 3,8 ms, samt för högintensitetsblixtar på 10 cd·s/m² beräknades b-vågens amplitud till 177,6 ± 43,8 µV och implicitid till 36,0 ± 5,7 ms.

Komáromy *et al.* (2003) utförde registreringar av FERG där hästar sederades med detomidinhydroklorid och DTL-elektroder användes. Resultaten redovisades som normala för häst. Medianvärdena för b-vågens amplitud och implicitid efter 20 minuters mörkeradaptation var 188 µV respektive 109 ms då stavarna stimulerades med enstaka ljusblixtar på 0,03

cd·s/m². Då 3 cd·s/m² blixtrar användes för att få ett kombinerat tapp- och stavsvar var medianamplituden 186 µV och implicittiden 77 ms. En del av hästarna blev oroliga och rörde sig vid exponering för 30 Hz blixtrar (vilket gav muskelartefakter), vilket sågs som ett problem då den stimulusfrekvensen används för att testa tappfunktionen.

I Ströms (2004) examensarbete registrerades FVEP (flash visual evoked potential) samt FERG på två hästar. Ljusblixtrar med ljusintensiteten 2,5 cd·s/m² stimulerade ögat och frekvensen 1 Hz användes. De FERG:n som registrerades hade värden för implicittider mellan 14-16 ms för a-vågen respektive 33-43 ms för b-vågen, värden som registrerades för amplituden var mellan 13-22 µV för a-vågen, respektive 59-97 µV för b-vågen. Samtidig registrering av FVEP och FERG kunde visas.

Sedering

Tabell 1. Använd sederingsdos vid FERG försök

Författare	Sederingsdos (detomidinhydroklorid)
Ben-Shlomo <i>et al.</i> , (2012)	0,015 mg/kg
Church & Norman, (2012)	0,015 mg/kg
Komáromy <i>et al.</i> (2003)	0,015 mg/kg
Ström (2004)	0,005 mg/kg

Sedering med 0,015 mg/kg detomidinhydroklorid beskrivs som en effektiv dos (Ben-Shlomo *et al.*, 2012; Komáromy *et al.*, 2003). Vid undersökning av bara ett öga kan sederingstiden räcka, men iterering eller en kontinuerlig infusion kan bli aktuellt då halveringstiden för detomidin överskrids. Exakt hur detta påverkar FERG-resultaten har dock ännu inte beskrivits.

I studien från Church och Norman (2012) observerades och bedömdes hästarnas grad av sedering subjektivt, även huvudposition utvärderades. Grad av bedömd sedering hade ingen signifikant inverkan på hästarnas förmåga att tolerera ERG registreringar och 0,015 mg/kg detomidin ansågs även här vara en lämplig dos.

Ström (2004) jämförde hästar sederade med 5µg detomidin per kg kroppsvikt med osederade hästar. Resultaten var mer lättolkade då hästarna var sederade, eftersom störningarna minskade.

På hund rekommenderas allmän anestesi då FERG utförs för att undvika störningar från muskelaktivitet samt för att kunna ha en optimal ögonposition. (Ekestén *et al.*, 2013) Vid ERG på häst är dock allmän sedering att föredra framför allmän anestesi eftersom sövning av häst alltid är riskabelt, hästar är otympligare att hantera under och efter en sövning, det finns risk för skador vid uppvaknandet, liksom att det finns en kostnadsaspekt för undersökningen. (Komáromy *et al.*, 2003; Church & Norman, 2012).

Klinisk användning av ERG på häst

Chorioretinopatier

Bullet-hole lesions är fokala förändringar i chorioretina ofta lokaliserade till icke-tapetala delar av ögonbotten i nära anslutning till synnerven (Matthews, 2004). Orsaken är inte fastställd men föreslås kunna vara vaskulit i koroidea, infarkter eller ischemi i samband med virusorsakad respirationssjukdom så som EHV-1. Histologiskt ses förändringar på retinal vävnad med pigmentcellshyperplasi och migration av dessa celler till degenererade områden i den neurosensoriska delen av retina. Effekten på den retinala funktionen är inte känd.

I Allbaugh *et al.* studie (2014) utfördes FERG på två hästar med så kallade bullet-hole lesions, som jämfördes med resultat från hästar med normal retina. Inga skillnader i FERG sågs mellan de med bullet-hole lesions och de med normal retina. Allbaugh *et al.* föreslår att andra former av ERG skulle kunna ge mer information om vilka eventuella effekter bullet-hole lesions kan ha på synen.

Kongenital stationär nattblindhet

CSNB (kongenital stationär nattblindhet) förekommer hos bland annat appaloosas och ger karakteristiska synproblem när ljuset är dämpat (Matthews, 2004). Orsaken till synproblemen är att signalerna från stavarna inte förs vidare i neuroretina, helt eller delvis.

I studier av Witzel *et al.* (1978) och Sandemeyer *et al.* (2007) har hästar med CSNB studerats. Vid en vanlig undersökning med oftalmoskop sågs inga förändringar i ögonbotten, utan sjukdomen konfirmerades i båda studierna genom registrering av ett förändrat FERG. Skotopiskt (mörkeranpassat) FERG (som testar stavarnas funktion) har en kraftigt reducerad eller icke existerande b-vågsamplitud jämfört med hästar med normal retinal funktion.

Glaukom

Ett ökat tryck i ögat kan ge skador på retinala ganglieceller och synnervens axon (Brooks & Matthews, 2004). En kvarstående tryckökning kan leda till blindhet. Orsaken till glaukom kan vara primär eller sekundär. Den vanligaste formen av glaukom hos häst är sekundärt glaukom och ses ofta i samband med kronisk exacerbativ uveit (se översikt i Wilkie 2010; Cullen och Grahn, 2000). Diagnosen glaukom ställs genom oftalmoskopisk undersökning av synnervshuvudet och mätning av intraokulärt tryck, men även andra kliniska fynd vägs in.

Bildkälla vid stimulering

Vid mönsterstimulering kan två olika typer av bildskärmar användas. Längre tillbaka dominerade CRT skärmar (cathode ray tube), men utvecklingen har mer och mer gått över till användandet av LCD skärmar (liquid crystal display). Jämförelser mellan dessa två skärmar har utförts bland annat av Fox *et al.* (2014) för multifokal PVEP samt av Kaltwasser *et al.* (2008) för multifokal FERG.

Fox *et al.* (2014) tittade på SNR (signal- brus förhållande) för 15 normalsynta människor där en CRT- och en LCD-skärm jämfördes. De undersökte även luminansstabiliteten, samt

påverkan av betraktningssvinkeln på luminans och kontrast mellan de två skärmtyperna. De visade att LCD skärmen tog 60 minuter på sig att stabilisera luminansen efter att den satts på jämfört med CRT skärmens 10 minuter. LCD-skärmens luminans var känslig för temperaturförändringar, medan CRT-skärmens luminans var stabil för varierande temperatur. Luminansen varierade med betraktningssvinkeln mellan skärmarna där en större variabilitet sågs för LCD-skärmen, men de såg inga skillnader mellan skärmarnas SNR. CRT-skärmen tog 0,5 ms på sig att skifta från svart till vitt och från vitt till svart, medan LCD skärmen tog 2 ms på sig att skifta från vitt till svart och skiftet mellan svart till vitt tog 7 ms. Detta innebär en kortvarig luminansförändring för LCD-skärmens reverseringar, vilket kan påverka resultatet vid användning. Studien kunde dock inte visa på att luminansartefakterna gav någon skillnad i responsen på multifokalt-PVEP hos friska människor, men att det skulle kunna påverka människor med nedsatt syn mer eftersom en luminanseffekt ofta är mer signifikant från centrum av det multifokala PVEP och därför lättare kontaminerar mönsterstimulering för en patient som har en nedsatt syn i detta område.

Kaltwasser et al (2008) jämförde hur en CRT- respektive en LCD-skärm påverkade retinas svar vid multifokal-FERG. Luminansen för de båda skärmarna var den samma vid mätningarna. Multifokalt FERG registrerades och jämfördes samt den totala mängden avgivet ljus över tid. Resultaten visade att LCD-skärmen hade högre amplituder och längre latenstider. Författarna menar att valet av ljuskälla påverkar resultaten och måste tas i beaktande vid användning av en LCD-skärm.

EXPERIMENTELL STUDIE

MATERIAL OCH METOD

Hästar

Tre vuxna hästar användes. Dessa var alla ston av rasen varmblodig travare som var tre, sjutton och tjugotvå år gamla. En av hästarna användes vid två undersökningstillfällen, de övriga två vid ett tillfälle. Försöken utfördes i en för hästarna bekant miljö. Under försöken var hästarna placerade i en undersökningsspila. Försöket var godkänt av Uppsala djurförsöksetiska nämnd, dnr C403/12.

Klinisk och oftalmologisk undersökning

Hästarna var kliniskt friska vid den allmänkliniska undersökningen som utfördes innan försökens början. Vid skiaskopi var hästarna emmetropa (normalsynta) och vid oftalmoskopering och undersökning av ögonbotten syntes inga förändringar som skulle kunna antas påverka retinas funktion. De okulära medierna var klara.

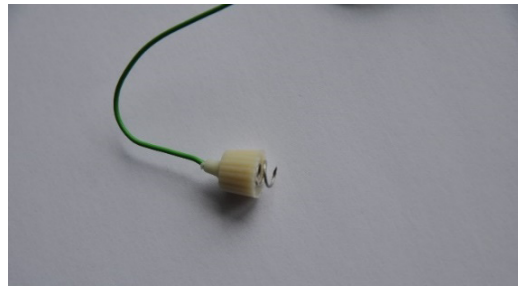
Sedering, lokalbedövning och tårersättning

Permanentkanyl anslades i vena jugularis. Därefter gavs en bolus med detomidinhydroklorid 0,008 mg/kg (Cepesedan vet. 10mg/ml, VM Pharma AB, Stockholm) och efter detta kopplades ett natriumkloriddropp med 0,002 % detomidinhydroklorid, som gavs symtomatiskt. Olika sederingsdjup provades vid försöken, från en lätt sedering där hästen var

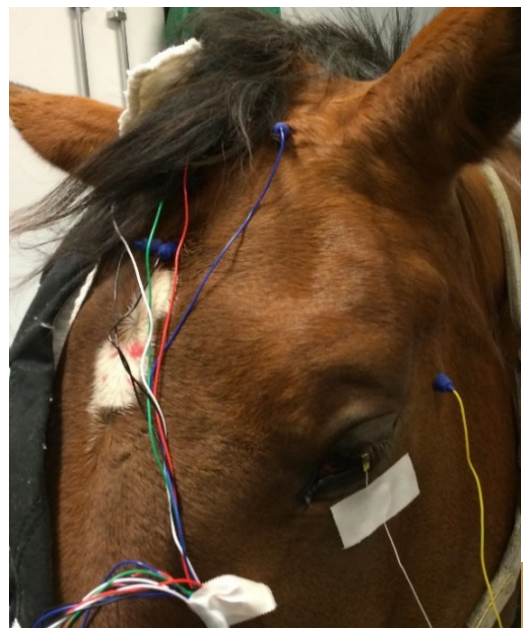
intresserad av omgivningen till en kraftigare sedering där hästen fortfarande stod stabilt men uppvisade ett ointresse för omgivningen och lutade huvudet tungt mot ett huvudstöd. Vidare gavs sammanlagt 3 ml mepivacain (Carbocain 20 mg/ml, AstraZeneca AB, Södertälje) subkutant där elektroder skulle placeras. Nervblockad lades vid N. palpebralis och N. supraorbitalis med 3 ml mepivacain. Cornea bedövades med 2 droppar tetrakainhydroklorid (Tetrakain Chauvin 1 %, 10 mg/ml, Chauvin Pharmaceuticals Ltd., Kingston Upon Thames, England). Bedövningen av cornea upprepades vid behov. Ögat hölls fuktigt genom regelbunden instillation av tårsubstitut med hyaluronsyra (Zilkeye, Evolan Pharma AB, Stockholm).

Registrering av ERG och VEP

Två korkskruvselektroder (figur 4) (Stainless Steel, Disposable Subdermal Corkscrew Needle Electrodes, Technomed Europe, Maastricht-Airport, Nederländerna) placerades på hästens huvud (figur 5). Den ena som referens ca 3 cm från laterala cantus och den andra som jord mitt i pannan på 50 % av avståndet mellan mittpunkt mellan foramina supraorbitale och christa nuchae hösta punkt. En corneaelektrod (Gold Foil Corneal Electrodes, CH Electronics, Bromley, United Kingdom) placerades i konjunktivalsäcken i det öga som skulle undersökas.



Figur 4. Korkskruvselektrod.



Eftersom VEP skulle registreras vid samma försök placerades elektroder även för detta (för exakt placering, se Ström (2015)).

Vid registreringar för häst 1 och häst 2 användes bandpassfiltret 1-500 Hz, vid häst 3 sattes filtret till 1- 200 Hz. Medelvärden av cirka 100 responser registrerades.

Impedansen mellan elektroderna var, under samtliga försök, under 5k Ω , vilket kontrollerades innan start av varje registreringsomgång.

Mönsterstimulus

Schackrutigt mönster visades på en LED-skräm (iiyama ProLite 819025, PLB1902S-B1) som stod på



85 cm avstånd från cornea. Rutmönstret (figur 6) genererades med utrustning för elektrofysiologi på djur (Retiport, Acrivet, RETIport Reader Station 5.9.7.0.).

Olika rutstorlekar för stimulering användes: 1°, 1,25°, 2,7°, 4° och 10°. Rutorna reverserades med en hastighet av 1 eller 2 Hz (2 eller 4 reverseringar per sekund). Bildskärmen täckte 20° vertikalt och 25° horisontellt av synfältet.

Försöken utfördes i ett rum med dämpad belysning. Kontrasten mättes med en fotometer (IL 1700 Research Radiometer, International Light, Newburyport, USA) efter att skärmen fått värma upp i ca 30 min. Medelluminansen uppmättes till 100 cd/m². Michelsons kontrast, som beräknades från uppmätta luminansvärden, var 99,6 %.

Registrering av PERG

Skärmen placerades så att hästen bedömdes titta rakt mot centrum av rutmönstret. Detta gjordes genom att med ett direkt oftalmoskop kontrollera ungefärlig position för area centralis och utifrån det placerades skärmen så den fyllde upp den delen av synfältet som bedömdes svara mot area centralis. Vid behov påkallades hästens uppmärksamhet mot skärmens rutmönster med ljudstimuli i form av knackningar på skärmens baksida, smackningar, prasslande med plastpåse samt inspelat hästgägg, nära skärmen. Under varje session hölls det stimulerade ögats ögonlock upp manuellt för att inte skymma stimulus. Fundusreflexen och hur öronen var placerade användes som ledtrådar för att så bra som möjligt bedöma var hästens uppmärksamhet var riktad. Mellan registreringar släpptes ögonlocket så att ögat återfuktades.

Registreringarna startades först när hästen bedömdes titta på skärmen och stoppades när hästen rörde ögat eller huvudet. När hästen åter var i position fortsattes registreringen tills önskat antal responser samlats in. Mellan registreringarna fick hästen vila i några minuter för att återfå motivationen att titta på skärmen.

Val och bearbetning av registrerade kurvor

Registreringar av god kvalitet valdes ut från varje försökstillfälle. Från dessa kurvor bestämdes implicittiden för N₁ och P₁ samt amplitud för P₁ (se figur 1 för metod: N₁ motsvarar N₃₅, P₁ motsvarar P₅₀ men utan tidsangivelsen som indexen 35 och 50 representera). Från dessa värden beräknades medelvärde för amplitud och implicittid samt standardavvikelser.

Studentförsök

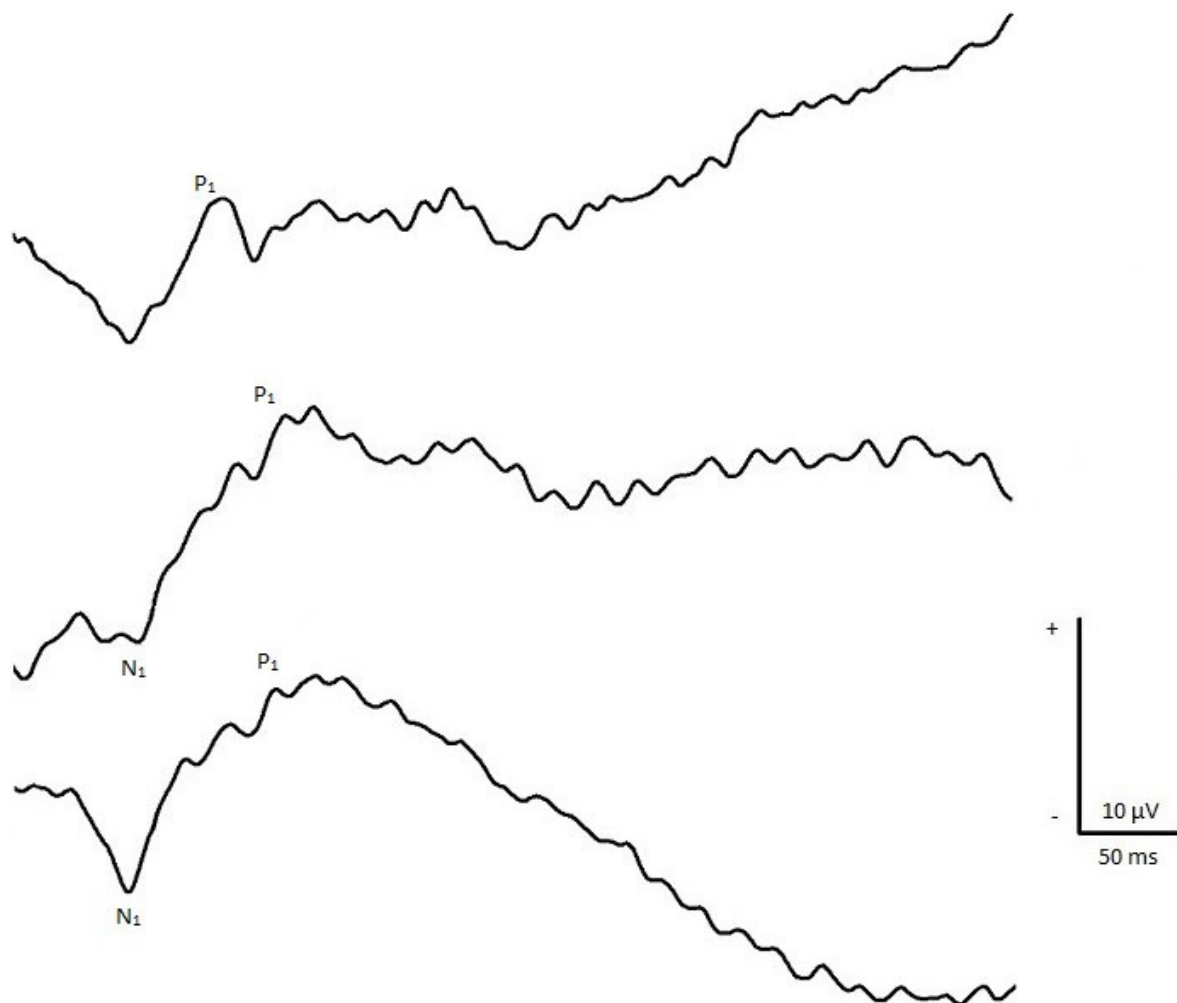
För att bekanta sig med utrustningen utfördes även registreringar på två studenter (H. L. och L.V.). Cornea bedövades med två droppar tetrakainhydroklorid (Tetrakain Chauvin 1 %, 10 mg/ml, Chauvin Pharmaceuticals Ltd., Kingston Upon Thames, England) varefter en corneaelektrod placerades enligt bruksanvisningen (Gold Foil Corneal Electrodes, CH Electronics, Bromley, United Kingdom). Kutana elektroder (Grass gold disc electrodes, Astro-Med Inc. West Warwick, RI, USA) fästes på huden enligt Bach *et al.* (2012). Studenten satt på 100 cm avstånd och rutstorlekarna 4° och 1° användes. Båda ögonen var öppna och fixerade på mitten av skärmen. Medelvärden av cirka 100 responser registrerades. För att

undersöka hur fixering på skärmen påverkar kurvan registrerades en omgång med fokus på skärmen och en med fixering bredvid skärmen (fokus blev då bakom skärmen) för varje rutstorlek.

RESULTAT

Hästarna

Resultaten från de tre hästar som försöken utfördes på visar att reproducerbara registreringar är möjliga att utföra på häst. Kurvorna har liknande vågform samt implicitider och amplituder vid jämförelse mellan hästar (figur 7). En mindre negativ, första våg (N_1) och därefter en mer uttalad positiv våg (P_1) kunde ses vid registreringarna. En antydning till en liten, mycket tidig, första positiv topp sågs vid några av registreringarna, men kunde inte alltid reproduceras.



Figur 7. Kurvor från häst 1 vid stimulering med schackrutigt mönster på en LED-monitor (överst, rutstorlek 1°), häst 2 (mitten, rutstorlek 1°) & häst 3 (nederst, rutstorlek $1,25^\circ$).

Amplituderna för de signaler som registrerades från corneaelektroden hade medelvärdet $8,9 \mu\text{V}$ för den första positiva vågen (P_1 ; tabell 1). Medelvärdet för implicitiderna var $48,1 \text{ ms}$ för N_1 respektive $116,2 \text{ ms}$ för P_1 (tabell 2). Standardavvikelsen för den första positiva vågens implicitid var klart större än för den första negativa vågens.

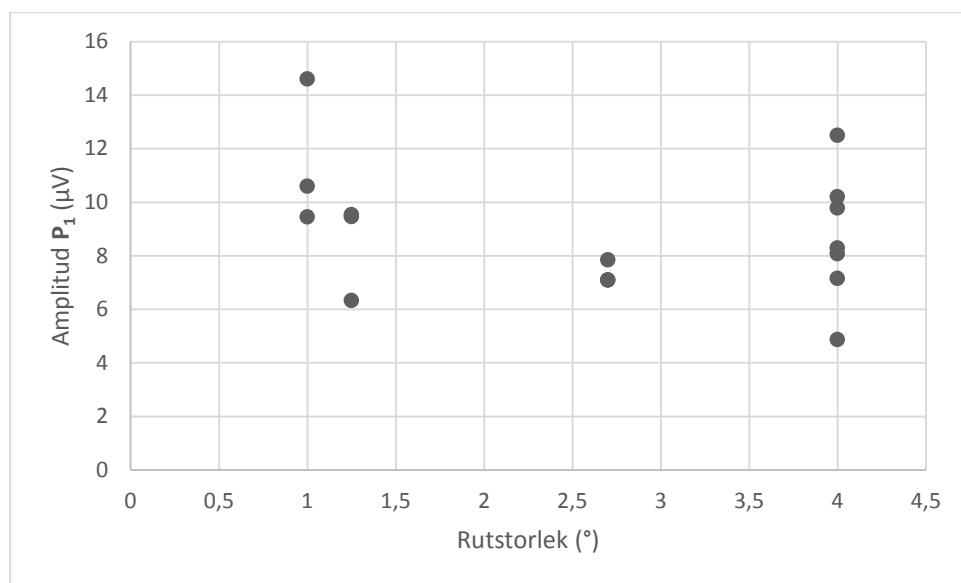
Tabell 2. *Amplituder (medelvärde samt standardavvikelse) för de två hästar där rutstorlek 1° användes. Medelvärdet för de två hästarna ses längst ner i tabellen.*

	P ₁ - N ₂ (μV)
Häst 1	7,2 ± 2,3
Häst 2	11,2 ± 3,2
Alla	9,2 ± 2,8

Tabell 3. *Implicitider (medelvärde samt standardavvikelse) för de två hästar där rutstorlek 1° användes. Medelvärdet för de två hästarna ses längst ner i tabellen.*

	N ₁ (ms)	P ₁ (ms)
Häst 1	48,6 ± 5,4	101,8 ± 17,6
Häst 2	52,2 ± 4,6	129,5 ± 6,0
Alla	50,4 ± 2,5	115,6 ± 19,6

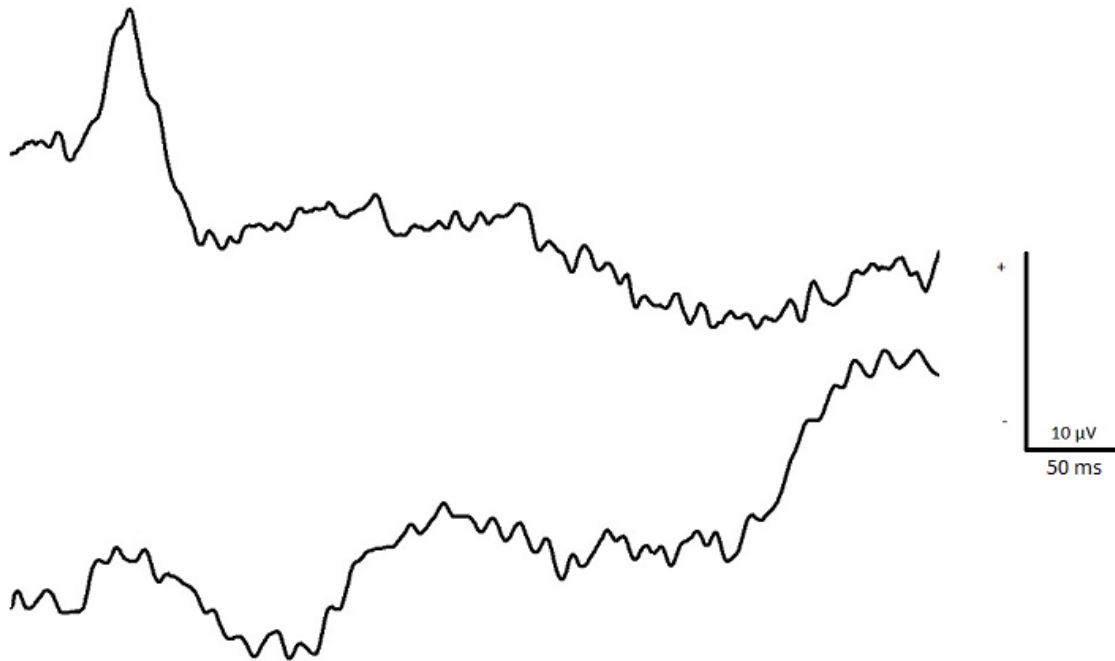
För att titta på hur olika rutstorlekarna påverkade amplituden för den första positiva vågen (P₁) jämförs rutstorlek med registrerad amplitud (figur 8).



Figur 8. *Rutstorlek (1°, 1,25°, 2,7°, 4°) och P1:s amplitud för respektive rutstorlek.*

Studenterna

Vid försöken på studenterna gav rutstorlekarna 1° samt 4° typiska PERG-kurvor med distinkt P50 och N95, då fixering hölls på rutmönstrets centrum (figur 9 övre kurvan). Då fixering hölls vid sidan av rutmönstret (och fokus hamnade någonstans bakom skärmen) blev PERG kurvan istället kraftigt avvikande med en låg, avrundad P50, medan N95 fortfarande kunde urskiljas (figur 9 nedre kurvan).

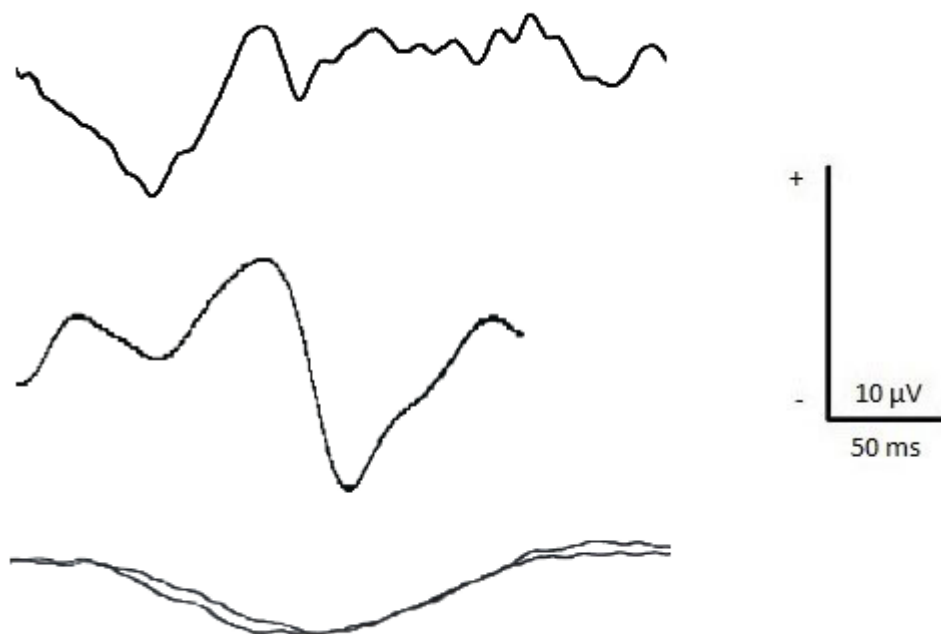


DISKUSSION

Resultaten från de tre hästar där ERG med mönsterstimulering utfördes i denna studie visar att registreringar är möjliga att utföra på stående, sederad häst, vilket var målet med detta examensarbete. Det visade sig dock inte vara helt tekniskt enkelt, störningsmoment från omgivningen och rörelser från hästen påverkade registreringarna kraftigt och det var svårt att säkert veta när hästen fixerade på mönstret.

Resultaten visar på längre implicitider för de registreringar vi erhöll på häst jämfört med Sims och Ward (1992) studie på hund. Amplituden var däremot högre jämfört med Sims och Wards resultat. Hästarnas medelamplituder ligger på övre gränsen för normala amplituderna vid PERG på människa, som enligt Bach et al, (2012) är mellan 2-8 μV . I detta försök var medelamplituden 9,2 μV .

I figuren nedan ses en jämförelse mellan häst 1 från detta försök, transient PERG från hund (Sims och Ward, 1992) och steady-state PERG (alltså med högre reverseringsfrekvens än i denna studie) från råtta samt hund (Ben-Shlomo et al., 2005). Skillnaderna i kurvform är säkerligen till stor del betingade av metodologiska skillnader mellan studierna och det går därför inte säkert att avgöra om artskillnader föreligger.



Figur 10. Jämförelse mellan olika djurslags PERG. Översta kurvan visar häst 1 från detta försök (exponerad för rutstorleken 1°), mellersta kurvan är från råtta (steady-state PERG, 1,3°) efter Ben-Shlomo et al., (2005) och understa kurvan visar transient PERG från hund (exponerad för rutstorleken 1,25°, två överliggande kurvor eftersom försöket upprepats på samma hund med samma mätvärden) efter Sims & Ward, (1992).

Vad som gör att värdena för amplitud och implicitider skiljer sig för hästarna kan ha flera förklaringar. Kanske rör det sig om en djurslagsvariation, alltså att de här resultaten är vad som är normalt för häst. Det kan också vara så att den bildskärm vi använt gett luminansartefakter, dvs att ljusmängden från skärmen inte varit konstant. I jämförelsen mellan rutstorlekar och amplitud hade en normalsynt människa vid användande av mycket stora rutor inte haft något PERG alls, så småningom med minskande rutstorlekar, skulle kurvan nå ett maximalt värde för amplituden. Ytterligare mindre och mindre rutor skulle ge en minskande amplitud igen. Tillslut skulle registreringarna helt försvinna när rutorna var så små att de inte kan uppfattas som ett rutmönster, under förutsättning att luminansen var konstant så ändringar i ljusmängd av misstag gav upphov till ett FERG. Detta bör gälla även för häst. Dock var det svårt att se några sådana tendenser för de rutstorlekar som användes i försöket i jämförelsen med amplituder för olika rutstorlekar. Den jämförelse talar för att det kan finnas luminansartefakter som påverkar mönsterregistreringarna. En LCD-skärm har använts som bildstimuleringskälla vilket skulle kunna ge luminansartefakter (Fox et al. 2014). Ett sätt att undersöka detta vidare vore att göra fler registreringar med minskande rutstorlekar. Om luminansartefakter inte uppstår kommer amplituden för PERG att gå mot noll när rutorna blir så små att hästen får svårt att urskilja dem (och schackbrädsmonstret flyter samman till en jämn, grå massa). Ett annat sätt att undersöka detta vore att använda en CRT-bildskärm. En liten tendens till att amplituden var större för mätningarna då rutstorleken var 1° jämfört med 4° grader sågs. Stämmer detta skulle det betyda att hästen har en bättre förmåga att uppfatta något mindre rutor (alltså att näthinnan har en god förmåga att lösa upp detaljer).

Fixering mot skärmen, alltså att hästen verkligen tittade på mönstret var en av de viktigaste förutsättningarna för försöken. Att vi inte kan veta säkert var hästen egentligen tittade är dock en svaghet med de registreringar som utförts och en potentiellt viktig felkälla. Försöken vi utförde på oss studenter visar tydligt på vikten av fixering då den ofixerade kurvan gav ett PERG med kraftigt reducerade toppar eller dalar. Det skulle kunna tänkas att maximal fixering inte påverkar lika mycket för en häst som för exempelvis en människa, då hästen inte har samma synskärpa som människor har, men logiskt borde bästa möjliga fixering alltid ge störst amplitud (men vid olika rutstorlek).

För att få hästen att fixera provades några olika ljudstimuli. Det som visades sig mest användbart var att inte använda ljudstimuli alls eller att diskret knacka på bildskärmen. Vid starkare stimuli upplevdes att hästen upphörde att fixera på skärmen. En annan notering som gjordes vid registreringarna var vikten av att inte ha för långa perioder då PERG registrerades. Ofta var 10-15 ljusblixtar optimalt innan hästen tappade fokus.

Att hitta ett fungerande sederingsdjup var en annan av utmaningarna. Det visade sig att hästarna var tvungna att vara relativt djupt sederade för att inte muskelartefakter och omgivningsstimuli skulle göra registreringarna svåra att genomföra. Tanken innan försökens början vara att hålla hästen relativt ytligt sederad med förhoppningen att den skulle hålla fixering på skärmen och mönsterreverseringarna bättre. Bland annat utförs PERG på människor på vakna patienter, eftersom de då kan uppmanas att titta på skärmen (Bach et al. 2012). Att ha hästen ytligt sederad visade sig dock inte vara lämpligt. Med en för ytlig sedering blev registreringarna av kurvorna av för dålig kvalitet för att kunna användas. I dessa

kurvor sågs flertal mycket höga toppar för amplituder utan samband eller mening, troligen med anknytning till rörelse av ögongloben eller muskelartefakter då något annat i omgivningen fixerades. Detta kan bero på att hästen är ett utpräglat flyktdjur, som normalt scannar av sin omgivning med sina sinnen i syfte att upptäcka olika typer av hot.

Sederingsdjup har diskuterats i flera artiklar för FERG på häst (Komáromy *et al.*, 2003; Church och Norman, 2012; och Ben-Shlomo *et al.* 2012). Ungefär samma doseringar verkar vara lämpliga även för mönsterstimulering på häst, då likande doser visade sig fungera vid sedering i detta försök. Att hitta den optimala sederingsgraden var dock inte huvudsyftet för försöken i det här arbetet, utan sederingen anpassades symtomatiskt.

På människa har lägre amplituder visats med stigande ålder (Bach *et al.*, 2006). Då en av hästarna var 17 år och en annan 22 år gammal är det något som skulle kunna ha en potentiell betydelse, då dessa får räknas som äldre hästar, men amplituderna från studien visar inte på någon sådan tendens. Antalet hästar som ingår i studien är för litet för att vi ska kunna uttala oss om förekomsten av en åldersrelaterad skillnad.

Framtida studier

Att registrera PERG vid synnedsättningar på häst skulle vara ett bra komplement till användningen av FERG samt FVEP. Försöken i det här arbetet visar på utmaningar i registrering av PERG och metoden behöver utvecklas vidare för att kunna användas kliniskt. På sikt behöver metoden optimeras för djurslaget häst och normaldata samlas in. Det är även viktigt att ta fram en tillräckligt enkel metod för att säkrare kunna bedöma hästens förmåga att fixera på stimulus under registreringarna.

Då PERG utförts på andra djur (hund, katt, råtta, kanin) som tagits upp i litteraturöversikten har allmän anestesi använts. I ett nästa steg skulle det vara intressant att se vad registreringar på sövda hästar skulle visa. Allmän anestesi på häst för att utföra PERG känns dock inte som rimligt i en klinisk verksamhet då risker och kostnader skulle bli för stora. Samma slutsats kom även författare till artiklar där FERG på häst undersökts fram till (Komáromy *et al.* 2003; Church och Norman, 2012). Att projicera mönstren direkt på retina skulle också vara en intressant vidareutveckling för att säkerställa stimulus position på retina och delvis även fokusera mönstret på retina.

Sekundärt glaukom är ett område där PERG skulle kunna utveckla förståelse för och diagnostiken av ytterligare. Som litteraturstudien tar upp har försök med PERG vid högt intraokulärt tryck studerats på bland annat hund (Hamor *et al.*, 1999; Grozdanic *et al.*, 2009), råtta (Ben-Shlomo *et al.*, 2005), kanin (Feghali *et al.*, 1991) och människa (Bach *et al.*, 2006). Att göra studier även på hästar med ökat intraokulärt tryck och eller glaukom med hjälp av PERG skulle vara mycket intressant för att se om amplituderna för PERG skulle vara lägre även för häst och korrelera till färre fungerande ganglieceller i retina.

Både djurskyddsmässigt och säkerhetsmässigt kan PERG ses som en del i utvecklingen av undersökningsmetoder för att kunna utreda hästens synfunktion mera fullständigt. För hästen

är det viktigt att kunna bedöma en synnedsättning och i förlängningen kanske till och med kunna behandla den, eller i alla fall kunna underlätta för hästen och dess ryttare genom insikten att en synpåverkan föreligger. Genom bättre undersökningsmetoder kan det också bli möjligt att hitta ett problem på ett tidigare stadium och på så vis hindra djurlidande. För människor i hästens närhet blir det en fråga om säkerhet att kunna diagnostisera hästen, en häst med icke diagnostiserad synnedsättning kan innebära en säkerhetsrisk då reaktioner som inte förväntas kan förekomma.

Standardiserade rutiner (sederings/sövning, elektroder, rutstorlekar, undersökningsmiljö, filter, rapportering av data med mera) lämpliga för PERG på häst skulle vara önskvärt för att lättare kunna jämföra resultat mellan studier i framtiden.

KONKLUSION

Den här studien, där målet var att försöka utföra mönsterstimulering på häst, visade att det är möjligt att utföra registreringar på stående, sederad häst. Detta har betydelse för att i framtiden kunna ta fram en metod för PERG även på häst som komplement till FERG- och FVEP-metoder. Det långsiktiga syftet är att kunna använda PERG kliniskt som en del i att bedöma en eventuell synnedsättning.

Fler hästar behöver undersökas med PERG för att få fram normaldata och utveckla metoden ytterligare. Resultaten pekar på att det finns en luminansartefakt i mönsterregistreringarna som utförts, detta behöver säkerställas och åtgärdas inför ytterligare registreringar. Fokusering på rutmönstret var en viktig del i registreringarna och en bättre metod för att säkerställa detta behöver undersökas vidare.

TACK

Jag vill tack min handledare Björn Ekestén samt biträdande handledare Lena Ström för mycket bra handledning, engagemang och positiva tillrop under arbetets gång. Jag vill även tacka min studentkollega Hanna Lindén för ett mycket bra samarbete under studien.

REFERENSER

- Allbaugh, R.A., Ben-Shlomo, G. & Whitley, R.D. (2014). Electroretinogram evaluation of equine eyes with extensive 'bullet-hole' fundic lesions. *Veterinary Ophthalmology*, 17:129-133.
- Bach, M., Brigell, M.G., Hawlina, M., Holder, G.E., Johnson, M.A., McCulloch, D.L., Meigen, T. & Viswanathan, S. (2013). ISCEV standard for clinical pattern electroretinography (PERG): 2012 update. *Documenta Ophthalmologica*, 126(1):1-7.
- Bach, M., Unsoeld, A.S., Philipppin, H., Staubach, F., Maier, P., Walter, H.S., Bomer, T.G. & Funk, J. (2006). Pattern ERG as an early glaucoma indicator in ocular hypertension: A long-term, prospective study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(11):4881-4887.
- Ben-Shlomo, G., Bakalash, S., Lambrou, G.N., Latour, E., Dawson, W.W., Schwartz, M. & Ofri, R. (2005). Pattern electroretinography in a rat model of ocular hypertension: functional evidence for early detection of inner retinal damage. *Experimental Eye Research*, 81(3):340-349.
- Ben-Shlomo, G., Plummer, C., Barrie, K. & Brooks, D. (2012). Characterization of the normal dark adaptation curve of the horse. *Veterinary Ophthalmology*, 15(1):42-45.
- Brooks, D. & Matthews A.G. (2004). Anterior chamber, aqueous and glaucoma. I: Barnett, K.C., Crispin, S.M., Lavach, J.D. & Matthews, A.G. (red), *Equine Ophthalmology*. 2. ed. Philadelphia: Elsevier Limited, 149-165.
- Church, M.L. & Norman, J.C. (2012). Electroretinogram responses of the normal thoroughbred horse sedated with detomidine hydrochloride. *Veterinary Ophthalmology*, 15:77-83.
- Congdon, B., O'Colmain, B., Klaver, C.C., Kelin, R., Muñoz, B., Friedman, D.S., Kempen, J., Taylor, H.R. & Mitchell, P. (2004). Causes and prevalence of visual impairment among adults in the Unites states. *Ophthalmology*, 122 (4): 477-485.
- Cullen, C.L. & Grahn, B.H. (2000). Equine glaucoma: a retrospective study of 13 cases presented at the Western College of Veterinary Medicine from 1992 to 1999. *Canadian Veterinary Journal- Revue Veterinaire Canadienne*, 41(6):470-480.
- Cunha, L.P., Oyamada, M.K. & Monteiro, M.L.R. (2008). Pattern electroretinograms for the detection of neural loss in patients with permanent temporal visual field defect from chiasmal compression. *Documenta Ophthalmologica*, 117(3):223-232.
- Ekesten, B. (2013). Electrodiagnostic Evaluation of Vision. I: Gelatt, K.N., Gilger, B.C. & Kern, T.J. (red.), *Veterinary Ophthalmology*. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 684-703.
- Ekesten, B., Komaromy, A.M., Ofri, R., Petersen-Jones, S.M. & Narfstrom, K. (2013). Guidelines for clinical electroretinography in the dog: 2012 update. *Documenta Ophthalmologica*, 127(2):79-87.
- Feghali, J.G., Jin, J.C. & Odom, J.V. (1991). Effect of short-term intraocular pressure elevation on the rabbit electroretinogram. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 32(8):2184-2189.
- Fox, M., Barber, C., Keating, D. & Perkins, A. (2014). Comparison of cathode ray tube and liquid crystal display stimulators for use in multifocal VEP. *Documenta Ophthalmologica* 129: 115-122.
- Grozdanic, S.D., Kecova, H., Harper, M.M., Nilaweera, W., Kuehn, M.H. & Kardon, R.H. (2010). Functional and structural changes in a canine model of hereditary primary angle-closure glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(1):255-263.
- Hamor, R.E., Gerding, P.A., Ramsey, D.T., Whiteley, H.E., Benson, G.J. & Schaeffer, D.J. (2000). Evaluation of short-term increased intraocular pressure on flash- and pattern-generated electroretinograms of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61(9):1087-1091.

- Holder, G. E. (2001) Pattern Electretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20(4): 531-561.
- Holder, G.E. (2004). Electrophysiological assessment of optic nerve disease. *Eye*, 18: 1133–1143.
- Holmgren, F. (1865). En method att objektifiera effecten af ljusintyck på retina. *Uppsala Läkareförenings Förhandlingar*, (1): 177-191.
- Hurn, S.D. & Turner, A.G. (2006). Ophthalmic examination findings of thoroughbred racehorses in Australia. *Veterinary Ophthalmology*, 9(2):95-100.
- Kaltwasser, C., Horn, F. K., Kremers, J. & Juenemann, A. (2008). A comparison of the suitability of cathode ray tube (CRT) and liquid crystal display (LCD) monitor as visual stimulators in mfERG diagnostics. *Documenta Ophthalmologica*, 118:179-189.
- Komaromy, A.M., Andrew, S.E., Sapp, H.L., Brooks, D.E. & Dawson, W.W. (2003). Flash electroretinography in standing horses using the DTL microfiber electrode. *Veterinary Ophthalmology*, 6(1):27-33.
- Maffei, L. & Fiorentini, A. (1981). Electretinographic responses to alternating gratings before and after section of the opticnerve. *Science*, 211(4485):953-955.
- Matthews, A.G. (2004). Fundus. I: Barnett, K.C., Crispin, S.M., Lavach, J.D. & Matthews, A.G. (red.), *Equine Ophthalmology*, 2. ed. Philadelphia: Elsevier Limited, p. 211-247.
- Morrison, J., Farrell, S., Johnson, E., Deppmeier, L., Moore, C.G. & Grossmann, E. (1995). Structure and composition of the rodent lamina cribrosa. *Experimental Eye Research*, 60(2):127-135.
- Morrison, J.C., Guo, W. & Johnson, E.C. (2011). Pathophysiology of human glaucomatous optic nerve damage: Insights from rodent models of glaucoma. *Experimental Eye Research*, 93(2):156-164.
- Ofri, R., Dawson, W.W. & Gelatt, K.N. (1993). Visual resolution in normal and glaucomatous dogs determined by pattern electretinogram. *Progress in Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 3(3):111-116.
- Ohzawa, I. & Freeman, R.D. (1985). Pattern evoked-potentials from the cats retina. *Journal of Neurophysiology*, 54(3):691-700.
- Samuelson, D.A. (2013). Ophthalmic Anatomy. I: Gelatt, K.N., Gilger, B.C. & Kern, T.J. (red), *Veterinary Ophthalmology*. 5. ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, p. 39-171.
- Sandemeyer, L.S., Breaux, C.B., Archer, S. & Grahn, B.H. (2007). Clinical and electretinographic characteristics of congenital stationary night blindness in the Appaloosa and the association with the leopard complex. *Veterinary Ophthalmology*, 10(6):368-375.
- Sims, M.H. & Ward, D.A. (1992). Response of Pattern-Electretinograms (PERG) in Dogs to Alterations in the Spatial Frequency of the Stimulus. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 2: 106-112.
- Ström, L. (2004). *Utveckling av metod för utvärdering av synnervens funktion hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärmedicinska fakulteten/ Veterinärprogrammet (Examensarbete 2004:44)
- Thurlow, G.A. & Cooper, R.M. (1989). Effects of prolonged retinal ganglion-cell inactivity on superior colliculus glucosemetabolism in the mature hooded rat. *Experimental Neurology*, 104(3):272-278.

- Vaegan, Anderton, P.J. & Millar, T.J. (2002). Transient and steady state focal and pattern electroretinogram losses in cats with unilateral optic nerve section. *Documenta Ophthalmologica*, 105(2):105-127.
- Vaegan, Arora, A., Crewther, S.G. & Millar, T.J. (1990). The effect of various anesthetics on the spatial tuning of 2 major wave peaks in the transient pattern electroretinogram of the cat – evidence for pattern and luminance components. *Vision Research*, 30 (10):1401-1407.
- Wilkie, D.A. (2010). Equine glaucoma: state of the art. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, (37):62-68.
- Witzel, D.A., Smith, E.L., Wilson, R.D. & Aguirre, G.D. (1978). Congenital stationary night blindness: an animal model. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 17 (8):788-795.